

**Procedura pobierania próbek wód wysiękowych i oznaczenia w nich sumy azotu
azotanowego (V) i azotu azotanowego (III) w zakresie 0,71–35,69 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$**

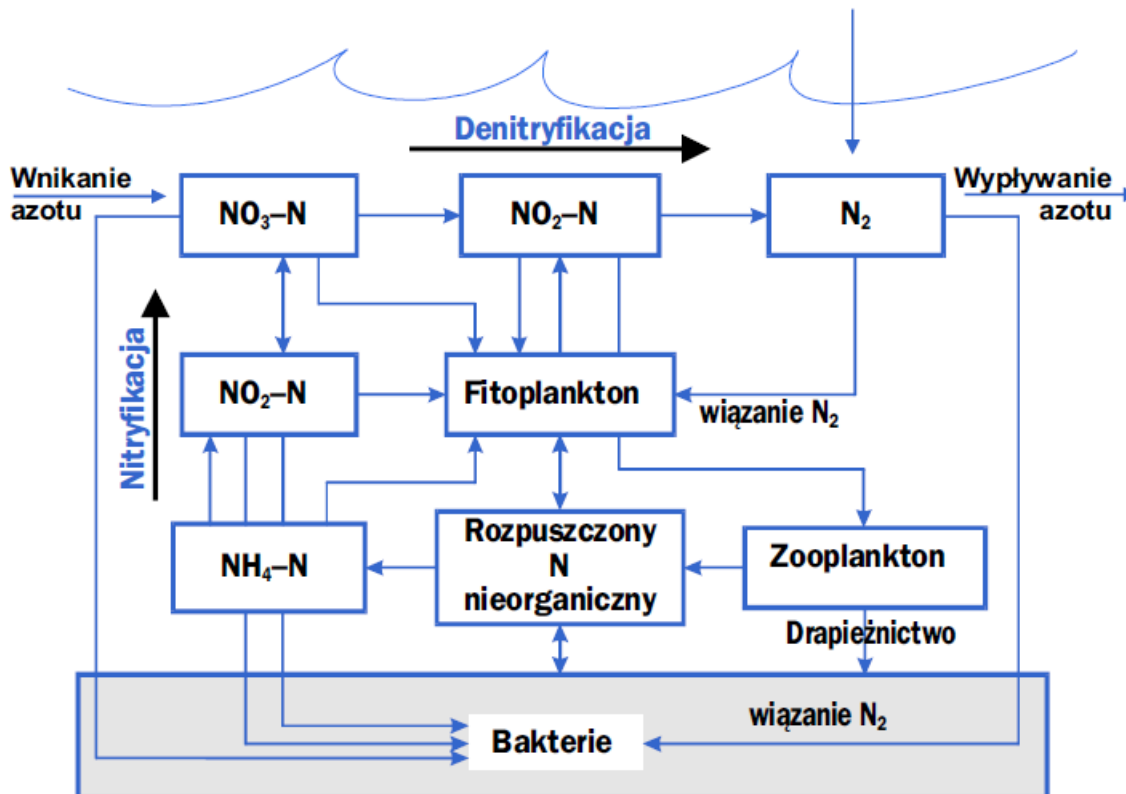
Opracował:
Żaneta Kłostowska
Beata Szymczycha
Zakład Chemii i Biochemii Morza
Instytut Oceanologii PAN

Spis treści

Wstęp.....	3
Zakres stosowania metody	4
Zasada metody.....	6
Określenia.....	6
Substancje i czynniki interferujące.....	6
Błędy analityczne	7
Aparatura i przyrządy.....	8
Odczynniki i roztwory.....	9
Ślepa próbka	9
Krzywa wzorcowa	9
Próbki środowiskowe	10
Pobranie próbki wód wysiękowych.....	10
Przygotowanie próbki do badań	11
Wykonanie oznaczenia.....	11
Kalibracja spektrofotometru	11
Procedura analityczna	12
Obliczenia.....	12
Obliczenia rozcieńczeń do krzywej wzorcowej jonu azotanowego V	12
Obliczenia rozcieńczeń do krzywej wzorcowej jonu azotanowego III	13
Obliczanie wyniku oznaczenia	13
Przekształcenie wzoru	14
Wyniki.....	14
Błąd względny	14
Względne odchylenie standardowe	14
Błąd bezwzględny.....	15
Precyzja metody	15
Czułość metody	15

Wstęp

Azot jest głównym pierwiastkiem budulcowym białek komórkowych. W tkance miękkiej fitoplanktonu określono że jest średnio 16 atomów azotu na 1 atom fosforu i na tej podstawie wyznaczano stosunek 16N:1P w materii organicznej - określany mianem wskaźnika Redfielda. W przypadku fitoplanktonu oraz roślin zielonych, składniki pokarmowe pobierane są w postaci nieorganicznych jonów oraz w przypadku cyjanobakterii, ważnym procesem jest biologiczne wiązanie azotu atmosferycznego (N_2). Do form nieorganicznych azotu można zaliczyć: azotany III (NO_2^-), azotany V (NO_3^-) oraz jony amonowe (NH_4^+). Należy nadmienić, iż związki azotu w znacznej mierze przyczyniają się do intensyfikacji procesu eutrofizacji w obszarach morskich.



Rys.1. Uproszczony schemat cyklu biogeochemicznego azotu w środowisku morskim

Główne źródło azotu w ekosystemie morskim: emisja do atmosfery tlenków azotu powstałych podczas transportu oraz w procesach spalania biomasy czy kopalin i w konsekwencji depozycja w morzach i oceanach, a także nawozy sztuczne dopływające wraz z splywem

powierzchniowym i dopływem czy też zrzuty nieoczyszczonych ścieków w strefie przybrzeżnej.

Azot w środowisku morskim ulega wielu procesom przedstawionym na Rys. 1. Przykładowo azot gazowy może być uwolniony w procesie redukcji azotanów (III i V) zwanym denitryfikacją. Innym procesem powodującym również powstanie azotu gazowego jest anamoks, czyli beztlenowe utlenianie jonów amonowych. Natomiast tlenowe utlenianie jonów amonowych tzw nitrifikacja prowadzi do powstania azotanów (V). Stężenia związków azotu w wodach charakteryzuje zmienność sezonowa, podyktowana okresem wegetacyjnym, a także wielkością ładunków wprowadzanych do obszarów morskich wraz z wodami rzek (Zalewska i in. 2015). Poza zmiennością sezonową obserwowana jest zmienność stężeń związków azotu w profilu pionowym kolumny wody oraz wraz z odległością od linii brzegowej. W przypadku strefy brzegowej wzrost stężeń w porównaniu do obszarów otwartego morza, jest obserwowany ze względu na bliskość źródeł dopływu tych substancji.

Mało poznanym dotąd źródłem azotanów dla środowiska morskiego jest dopływ wód podziemnych. Podczas dopływu wód podziemnych do środowiska morskiego dochodzi do mieszania się wody podziemnej z wodą morską w osadzie dennym. Powstała w wyniku mieszania woda to woda wysiękowa, która w określonych warunkach wydostaje się z osadu i może być źródłem wielu substancji chemicznych w tym azotanów III i V dla środowiska morskiego. Woda ta ma skład różny zarówno od wody gruntowej jak i morskiej i z tego powodu przygotowano metodykę dedykowaną do oznaczenia azotanów III i V w tej właśnie wodzie, z szczególnym uwzględnieniem samego pobrania próbek do analizy.

Zakres stosowania metody

Do analizy sumy jonów azotanowych III i V w próbkach wody wysiękowej opracowano metodę z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej przygotowanej przez firmę Hach-Lange, która należy do metod rekomendowanych przez HELCOM. Metoda to modyfikacja metody dedykowanej do wód słodkich do analizy $N-NO_2 + N-NO_3$ w zakresie od 0,7138 do 35,690 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$. Metoda ta opiera się na zależności absorbancji roztworu i stężenia substancji barwnej. W celu wykonania oznaczenia wybrany jon przeprowadza się do barwnego kompleksu. Techniki spektrofotometryczne definiowane są przez prawo Lamberta-Beera:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

gdzie:

ε - współczynnik absorpcji [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$] przy długości fali λ [nm],

l - grubość warstwy absorbującej,

c - stężeniem analitu w badanym roztworze.

W przypadku, gdy badana substancja spełnia powyższą zależność, absorbancja wyrażana jest jako liniowa funkcja stężenia danego analitu:

$$A = f(c)$$

Zatem absorbancja jest proporcjonalna do grubości warstwy absorbującej, jeśli wiązka promieniowania monochromatycznego przechodzi przez jednorodny ośrodek absorbujący (rys.2.).



Rys.2. Schemat oznaczania substancji w metodzie spektrofotometrycznej UV-VIS

Jeżeli w badanym roztworze znajduje się kilka składników, oznaczanie spektrofotometryczne można wykonać poprawnie tylko wtedy, gdy spełnione jest prawo addytywności absorbancji, wg którego absorbancja mieszaniny jest równa sumie absorbancji poszczególnych składników, a absorbancja pojedynczego składnika jest taka, jakby tylko on jeden znajdował się w badanej próbce.

Bardzo małe stężenia substancji barwnej w roztworze są oznaczane z dużym błędem, gdyż przepuszczalność roztworu badanego jest podobna do przepuszczalności roztworu odniesienia i najczęściej bliska 100 %. W przypadku intensywnie zabarwionych roztworów tylko mała część promieniowania przechodzi przez roztwór, co powoduje zwiększenie błędów wyników pomiaru. W celu wyboru najkorzystniejszego stężenia warstwy absorbującej należy znaleźć takie wartości $A(T)$, aby przy danym błędzie ΔA (ΔT) błąd względny wyznaczenia stężenia $\Delta c/c$ był najmniejszy.

Powyżej opisana metoda ma zastosowanie do oznaczania zawartości śladowych oraz do oznaczania czystości głównego składnika oraz wytyczonych substancji w próbkach środowiskowych – w tym w wodach wysiękowych, po ich uprzednim przygotowaniu do analizy.

Zakres metody stosowany jest do pomiaru stężeń odpowiednio dla jonów azotanowych (III) 0,7138-35,69 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$.

Zasada metody

Spektrofotometryczne oznaczenie sumarycznej zawartości jonów azotanowych V opiera się w początkowej fazie na reakcji redukcji kadmem do azotanów III oznaczaniu kolorymetrycznym azotanów III. Następnie podczas reakcji diazowania jon azotanowy III reaguje w kwaśnym środowisku z kwasem sulfanilowym, tworząc pośrednią sól diazoniową. Powstała sól łączy się z kwasem chromotropowym, tworząc różowe zabarwienie badanego roztworu.

Intensywność powstałego różowego zabarwienia jest proporcjonalna do zawartości sumarycznej jonu azotanowego III, jest mierzona metodą spektrofotometryczną, fotokolorymetryczną lub jest oceniana wizualnie.

Określenia

Substancje i czynniki interferujące

W oznaczaniu jonów NO_3^- do substancji i czynników przeszkadzających można zaliczyć: wapń $> 100 \text{ mg}/\text{dm}^3$, jon chlorkowy powyżej $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$ powoduje zniżenie wyniku (analizę można przeprowadzić przy wysokim stężeniu jonów chlorkowych - woda morską), jeżeli kalibracja jest przeprowadzana dla wzorców wody morskiej), żelazo interferuje na wszystkich poziomach stężeń, azotyny interferują na wszystkich poziomach – ich obecność można kompensować dodając kroplami do próbki roztwór wody bromowej o stężeniu $30 \text{ g}/\text{dm}^3$ do momentu utrzymania się żółtego zabarwienia lub dodając jedną kroplę roztworu fenolu o stężeniu $30 \text{ g}/\text{dm}^3$, aby usunąć kolor. Również do interferencji należy zaliczyć: wysoce zbuforowaną próbkę lub ekstremalne wartości pH - należy poddać korekcji poprzez dodanie odpowiednich odczynników, mętność, barwę, obecność substancji silnie utleniających i redukujących.

W przypadku oznaczaniu jonów NO_2^- do substancji i czynników przeszkadzających można zaliczyć: jony antymonowe – interferują poprzez wytrącanie, jonu złota – interferują poprzez wytrącanie, jony srebra – interferują poprzez wytrącanie, jony bizmutu – interferują poprzez wytrącanie, jony chloroplatynianowe – interferują poprzez wytrącanie, jony miedzi zaniżenie wyniku analizy, jony żelaza – zaniżenie wyniku analizy oraz interferują poprzez wytrącanie, jony ołowiu interferują poprzez wytrącanie, jony rtęci interferują poprzez wytrącanie, jony metawanadane interferują poprzez wytrącanie, również wysoki poziom stężenia azotanów (oznaczanych jako $\text{N} > 100 \text{ mg/dm}^3$) wydaje się ulegać niewielkiemu zmniejszeniu w stosunku do azotynów, spontanicznie lub podczas pomiaru, również na tym poziomie mierzalne są niewielkie ilości azotynów. Substancje silnie utleniające i redukujące interferują na wszystkich poziomach.

Wykonując analizę należy zachować szczególną ostrożność!!!

W przypadku wykonywania oznaczenia należy zachować szczególną ostrożność, ze względu na narażenie działania kadmu. Informacje dotyczące bezpiecznego postępowania i usuwania odpadów znajdują się w karcie charakterystyki. Należy przestrzegać wszystkich przepisów dotyczących utylizacji i przechowywania odpadów niebezpiecznych.

Ta metoda jest wrażliwa na technikę. Zarówno czas wytrząsania, jak i technika mieszania wpływają na rozwój barwy. Należy dopasować czas wytrząsania do próbki. Osad powstały z nieutlenionego metalu podczas reakcji, pozostały na dnie próbki, nie wpływa na wynik pomiaru. Ze względu na obecność kadmu w stosowanych odczynnikach, należy niezwłocznie po użyciu przepłukać kufkę oraz próbkę, aby usunąć cząsteczki kadmu. Pomierzone roztwory należy poddać odpowiedniej utylizacji.

Błędy analityczne

Główne błędy analityczne podczas oznaczania sumarycznej zawartości jonów azotynowych i azotanowych, w wodach wysiękowych wynikają między innymi z podstawowych ograniczeń praw Lamberta-Beera, można do nich zaliczyć przede wszystkim inne oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego. Z kolei do czynników chemicznych, które to powodują odchylenia od prostoliniowego przebiegu absorbancji, należy zaliczyć możliwe zachodzenie w badanym roztworze, wpływające na właściwości optyczne badanej cieczy, reakcje kompleksowania, dysocjacji, asocjacji, polimeryzacji, solwatacji, czy zmiany pH. Również należy brać pod uwagę czynniki aparaturowe, gdzie w

spektrofotometrii to głównie: niedostateczna monochromatyzacja promieniowania, oraz występowanie promieniowania rozproszonego.

Analizując uzyskane wyniki, które to znacząco odstają wartościami absorbancji w porównaniu do pozostałych roztworów, należy rozważyć możliwość wystąpienia błędów: systematycznych, metodycznych czy aparaturowych. Wykonać ponownie pomiar, na nowo przygotowanym roztworze, zgodnie z procedurą analityczną, z należytą dbałością.

Aparatura, przyrządy, odczynniki

Przed przystąpieniem do wykonania oznaczenia należy przygotować:

- spektrofotometr,
- pipeta automatyczna o pojemności 10 cm³ oraz jednorazowe tipsy,
- zakręcane pojemniki PTE o pojemności do 50 cm³,
- bezpyłowy ręcznik papierowy,
- tryskawka z wodą dejonizowaną MiliQ,
- strzykawki 20 cm³,
- sączi membranowe CA o średnicy porów 0,45 μm,
- kuweta pomiarowa,
- statyw,
- oznakowany pojemnik odbiorczy substancji chemicznych,
- saszetki z odczynnikiem,
- Nitra Ver 3 i 6 firmy Hach Lange
- arkusz kalkulacyjny.

Wygodnym narzędziem do oznaczeń sumarycznej zawartości jonów III i V w wodach wsięgowych jest spektrofotometr firmy HACH LANGE, dedykowany do analizy wybranych składników w próbkach wody oraz ścieków. Pomiary absorbancji wykonano na spektrofotometrze HACH LANGE DR2800 (dokładność fotometryczna: 3 mAbs przy 0,0 do 0,5 Abs, 1% przy 0,50 do 2,0 Abs; powtarzalność ±0,1nm).



Fot. 1. Spektrofotometr firmy HACH LANGE używany do oznaczeń w próbkach środowiskowych

Wszystkie materiały używane podczas oznaczenia powinny być uprzednio przygotowane, w celu uniknięcia wprowadzenia badanego analitu do układu, co może skutkować wzrostem wartości absorbancji. Do konserwacji oraz mycia materiałów i przyrządów, należy używać środków obojętnych chemicznie (np. Extran® MA 02).

Odczynniki i roztwory

Ślepa próbka

W celu zachowania dokładności i precyzji pomiaru, należy każdorazowo wykonać pomiar absorbancji w danym zakresie długości fali dla ślepej próbki. Ślepą próbkę należy przygotować zgodnie z procedurą przygotowania, jak w przypadku badanego roztworu. Roztwór stanowiący ślepą próbkę, powinna stanowić woda dejonizowana MiliQ, o zerowej zawartości innych substancji interferentnych oraz o zbliżonym co do próbki stężeniu jonów chlorkowych.

Krzywa wzorcowa

W celu prawidłowej kalibracji spektrofotometru, należy zastosować metodę krzywej wzorcowej, stanowiącą zależność absorbancji od stężenia substancji wzorcowej. W przypadku, gdy zależność absorbancji od stężenia, jest określona funkcją liniową, należy wykonać minimum trzy punkty kalibracyjne. Wykonanie dwóch punktów jest niezbędne do

poprowadzenia równania prostej, i odczytania współczynników a i b dla krzywej wzorcowej. Liniowość układu pomiarowego, jest potwierdzana trzecim punktem, który obrazuje również wzrost stężenia analitu. Dobra praktyka laboratoryjna, wskazuje na wykonanie minimum trzech pomiarów każdego punktu. Pozwala to na usunięcie wyników odstających i prawidłowe wytyczenie, zależności absorbancji od stężenia analitu. Należy przygotować od 3 do 10 roztworów wzorcowych o znanych, ściśle ustalonych stężeniach analitu, tak dobranych, aby różniły się o około 30 % i obejmowały swym zakresem stężenia analitów w oznaczanych roztworach. Każdorazowo przed wykonaniem serii pomiarów, należy sporządzić krzywą wzorcową. Zmiana partii odczynników czy temperatury panującej w pomieszczeniu może wpływać zarówno na zmianę kąta nachylenia krzywej lub jej przesunięcie. Otrzymane wyniki należy przedstawić w układzie współrzędnych: sygnał - absorbancja – stężenie analitu. Do uzyskanych danych należy dopasować określoną funkcję. Pomiarów należy wykonać przy określonej długości fali, która odpowiada maksimum absorpcji oznaczanej substancji oraz względem roztworu odniesienia. Uzyskanie prostoliniowego przebiegu zależności $A=f(c)$ świadczy o spełnieniu przez badany układ prawa Lamberta – Beera. Następnie należy na podstawie prostej wyznaczyć współczynnik kierunkowy, z którego należy wytyczyć współczynnik absorpcji oznaczanej substancji.

W celu sporządzenia roztworów wzorcowych do krzywej kalibracyjnej o znanych stężeniach, należy uprzednio pozostawić roztwór wzorcowy azotynów (w odniesieniu do SRM z NIST NaNO_2 w H_2O 1000 mg/l NO_2 Certipur®) oraz azotanów (w odniesieniu do SRM z NIST NaNO_3 w H_2O 1000 mg/l NO_3 Certipur®) do otrzymania temperatury pokojowej, zalecanej do wykonania roztworów roboczych. Roztwór główny, powinien stanowić certyfikowany materiał referencyjny, przechowywany zgodnie z zaleceniami producenta, co minimalizuje występowanie błędów systematycznych.

Próbki środowiskowe

Pobranie próbki wód wysiękowych

W celu pobrania próbek wód wysiękowych w pierwszym etapie, należy wytypować obszar aktywnego wysięku w strefie brzegowej. Należy umieścić lancę w osadzie na głębokości 10 cm (głębokość umiejscowienia lancy w osadzie należy odczytać z podziałki). Następnie w złączce, w górnej części lancy umieścić strzykawkę o pojemności 50 cm³. Wytwarzając podciśnienie używając tłoka, pobrać pierwszą partię

wody. Opróżnić strzykawkę, czynność powtórzyć. Próbką wody przepłukać pojemnik PTE o pojemności 50 cm³. Następnie pobrać kolejną próbkę wody, przelać do pojemnika. Próbkę należy przelewać powoli po ściance, aby zapobiec natlenieniu materiału badawczego. Po wypełnieniu pojemnika do objętości 50 cm³, umieścić w nim elektrody: pH, PSU, Eh oraz optodę do pomiaru tlenu. Wykonać pomiary *in situ*, przy użyciu miernika wieloparametrowego. Elektrody użyte do wykonania pomiaru powinny być uprzednio skalibrowane zgodnie z zaleceniami producenta. Wyznacznikiem występowania wysięku wód słodkich jest wartość PSU w stosunku do wody morskiej. Wartość mniejsza o 0.5 PSU od wody morskiej, wskazuje na występowanie wysięku w badanym obszarze. Po wykonaniu pomiarów *in situ*, do lancy należy podłączyć w miejsce złączki wąż teflonowy połączony z pompą perystaltyczną. Przed przystąpieniem pobierania sprawdzić próbkę na obecność zawiesiny i substancji powodujących mętność. Jeżeli występuje, należy przefiltrować próbkę, używając celulozowego filtra strzykawkowego o średnicy porów 0,45 µm podłączonego do węża. Próbkę należy pobrać, stosując niską wartość przepływu. Pobrać 50 cm³ próbki, pojemnik szczelnie zakręcić i umieścić w lodówce na czas transportu do laboratorium. Jeśli nie jest możliwe natychmiastowe wykonanie oznaczenia, próbkę należy odfiltrować i przechowywać próbki w temperaturze poniżej 6°C, przez okres 48 godzin. Próbkę można również konserwować poprzez mrożenie w temperaturze -20°C, do momentu wykonania oznaczenia sumy jonów azotanowych i azotynowych.

Przygotowanie próbki do badań

Jeżeli próbka wody była konserwowana poprzez mrożenie, należy na okres 12 godzin poprzedzających analizę przenieść do pomieszczenia z panującą temperaturą pokojową w celu rozmrożenia.

Wykonanie oznaczenia

Kalibracja spektrofotometru

W celu poprawnego wykonania pomiarów absorbancji, przed przystąpieniem do analizy, należy na okres dwóch godzin przed ich wykonaniem uruchomić urządzenie. Aby ocenić poprawność działania spektrofotometru w danym zakresie długości fali, należy wykonać serię pomiarów dla próbek o znanym stężeniu. Przed wykonaniem pomiaru absorbancji barwnego roztworu z uwzględnieniem drogi optycznej, należy dobrać odpowiednią kuwetę w przypadku spektrofotometru firmy Hach Lange- 10 ml.

Procedura analityczna

Procedura analityczna przebiega dwuetapowo. W pierwszym etapie należy odmierzyć za pomocą wykalibrowanej pipety 15 cm³ próbki, do uprzednio przygotowanego pojemnika, następnie wsypać odczynnik NitraVer 6 do roztworu. Pojemnik szczelnie zamknąć i mieszać przez 3 minuty. Podczas wstrząsania, nie cała objętość odczynnika musi ulec rozpuszczeniu. Próbówkę odstawić do statywu i odczekać 2 minuty w celu przereagowania odczynnika w roztworze. Następnie pobrać do strzykawki roztwór z próbówki. Założyć sącdek strzykawkowy CA z membraną o średnicy 2,5 cm, i średnicy porów 0,45 μm, dedykowany do roztworów wodnych. Usunąć pęcherzyki powietrza, następnie odmierzyć do czystej próbówki 10 cm³ roztworu. Do tak przygotowanej próbki należy dodać odczynnik NitriVer 3 i delikatnie mieszać przez okres 30 sekund. Próbówkę odstawić do statywu na okres 15 minut, następnie przenieść objętość 10 cm³ próbki do kuwety i wykonać pomiar absorbancji przy długości fali 520 nm dla wód wysiękowych.

W przypadku uzyskania intensywnego zabarwienia należy próbkę rozcieńczyć przy użyciu określonej ilości wody MiliQ, a w późniejszym etapie uwzględnić w przeliczeniach stężeń rozcieńczenie.

Obliczenia

Obliczenia rozcieńczeń do krzywej wzorcowej jonu azotanowego

Na podstawie poniższych danych i użytych wzorów w tabeli 1 zestawiono objętości oraz stężenia do wykonania krzywej wzorcowej. Do 10 ml roztworu głównego dodać 90 ml wody MiliQ.

Wzorzec (W): $C [\text{NO}_3^-] = 1000 \text{ mg NO}_3^- \text{ l}^{-1} = 16128 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

Standard główny (SD_G): 10 ml W - 100 ml = 1612,8 μmol·dm⁻³

Standard roboczy 1 (SD_{R1}): 0,04 ml SD_G – 50 ml = 0,32256 μmol·dm⁻³

Obliczenia rozcieńczeń

I - W

$M \text{ NO}_3^- = 62,0049 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

$C = 1\text{g}/62,0049 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} = 0,0161277576 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} = 16128 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$

II - SD_G

$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$

$$16\,128\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3} \cdot 10\ \text{ml} = C_2 \cdot 100\ \text{ml}$$

$$C_2 = 1612,8\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

Obliczenia rozcieńczeń do krzywej wzorcowej jonu azotowego

Na podstawie poniższych danych i użytych wzorów w tabeli 2 zestawiono objętości oraz stężenia do wykonania krzywej wzorcowej. Do 10 ml roztworu głównego dodać 90 ml wody MiliQ.

$$\text{Wzorzec (W): } C[\text{NO}_2^-] = 1000\ \text{mg NO}_2^- \text{ l}^{-1} = 21736,53\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

$$\text{Standard główny (SD}_G\text{): } 10\ \text{ml W} - 100\ \text{ml} = 2173,653\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

$$\text{Standard roboczy 1 (SD}_{R1}\text{): } 0,0328\ \text{ml SD}_G - 50\ \text{ml} = 0,712958\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

Obliczenia rozcieńczeń

I - W

$$M\ \text{NO}_2^- = 46,0055\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$C = 1\ \text{g}/46,0055\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1} = 0,02173653\ \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3} = 21736,53\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

II - SD_G

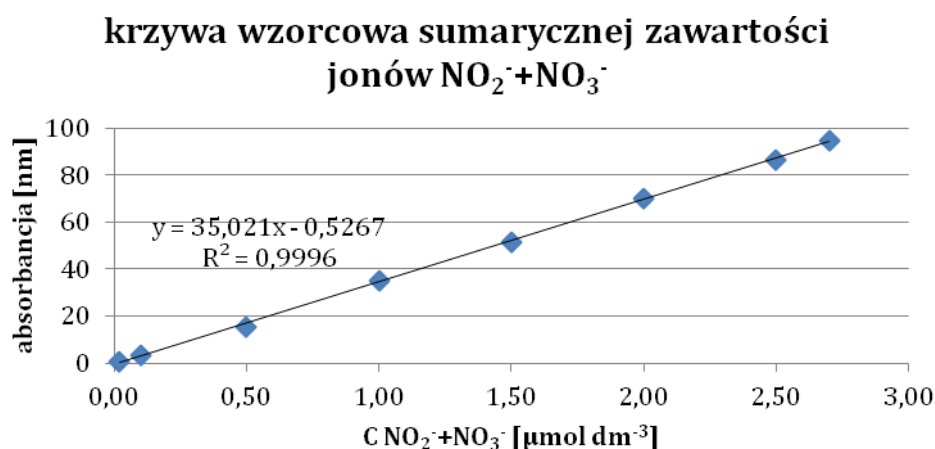
$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$21736,53\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3} \cdot 10\ \text{ml} = C_2 \cdot 100\ \text{ml}$$

$$C_2 = 2173,653\ \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$$

Obliczanie wyniku oznaczenia

W celu wyznaczenia stężenia analitu w próbce rejestruje się odpowiadający jej sygnał (w postaci absorbancji) i odnosi się go do krzywej kalibracyjnej. Poniżej przedstawiono przykładową krzywą wzorcową dla sumarycznej zawartości jonów $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$.



Rysunek 1. Przykładowy przebieg krzywej wzorcowej

Przekształcenie wzoru

$$A_{520} = 35,021 C \text{ NO}_2^- + \text{NO}_3^- - 0,5267$$

A_{520} – absorbancja przy długości fali 520 nm

C – stężenie sumy jonów $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ($\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$)

$$C \text{ NO}_2^- + \text{NO}_3^- (\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}) = (A_{520} + 0,5267) / 35,021$$

Wyniki

Tablica 1. Przykładowy formularz zapisu wyników absorbancji roztworów wzorcowych

Opis	Stężenie [$\mu\text{mol dm}^{-3}$]	abs1	abs2	abs3	abs4	abs5	abs _{sr}	abs _{sr} – abs _{sr} śl 1
SDR1								
SDR2								
SDR3								
SDR4								
SDR5								
SDR6								
SDR7								
SDR8								

Błąd względny

Odnosi wartość błędu bezwzględnego do wartości rzeczywistej (μ) i określa tym samym jego znaczenie dla oznaczenia. Błąd względny dla próbek o dużym stężeniu nie powinien przekraczać 0,1%, dla oznaczania ilości śladowych może przekraczać nawet 20%.

$$E_{wzg} = \frac{E_{abs}}{\mu} = \frac{x - \mu}{\mu}$$

$$\%E_{wzg} = \frac{x - \mu}{\mu} \cdot 100$$

Względne odchylenie standardowe

RSD (ang. *relative standard deviation*), niezależne od jednostek pomiaru. Jest wyrażone ilorazem wartości odchylenia standardowego i średniej z wartości pomiarów:

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$$

RDS jest liczbą mniejszą od jedności i wyrażane jest często w procentach jako współczynnik zmienności (ang. *coefficient of variance*) CV%.

Błąd bezwzględny

Określany jest jako różnica między zmierzoną wartością x , a wartością rzeczywistą. Może mieć wartość dodatnią lub ujemną i podawany jest zwykle w postaci wartości bezwzględnej. Dla wartości średniej z pomiarów jest to różnica tej wartości i wartości rzeczywistej.

Precyzja metody

Precyzja metody jest to stopień zgodności między wynikami uzyskanymi tą samą metodą i na tej samej próbce przy wielokrotnym powtarzaniu oznaczenia. Można ją zdefiniować jako rozrzut poszczególnych wyników przy powtarzanych doświadczeniach w stosunku do średniego wyniku z oznaczeń. Im większa precyzja tym mniejszy rozrzut. Przy powtarzanych doświadczeniach nie uzyskujemy nigdy dwóch identycznych wyników, a prawidłowe wyniki układają się zawsze zgodnie z rozkładem normalnym w kształcie krzywej dzwonowej. Najlepszą miarą precyzji jest odchylenie standardowe σ (lub jego przybliżenie s). Za precyzję oznaczeń odpowiedzialny jest błąd przypadkowy.

Czułość metody

W pomiarach spektrofotometrycznych parametrem określającym czułość metody, jest molowy współczynnik absorpcji (ϵ). Wartość molowego współczynnika absorpcji nie może przekroczyć wartości $1,5 \times 10^5$. Najmniejsze stężenie substancji (mol/l) oznaczalne spektrofotometrycznie można obliczyć ze wzoru Lamberta-Beera. Przy założeniu, że $A=0,02$ (minimalna absorbancja, którą można zmierzyć), $l=2$ cm (grubość kuwety), a $\epsilon=104$ (molowy współczynnik absorpcji średnio czulej metody spektrofotometrycznej).

Weryfikacja metody pobieranie próbek wód wysiękowych w:

Kłostowska Ż., Szymczycha B., Kuliński K., Lengier M., Łęczyński L., Hydrochemical characterization of various groundwater and seepage water resources located in the Bay of Puck, Southern Baltic Sea, E3S Web Conf., 2018, 54, 00013, DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185400013>.

Weryfikacja metody analizy jonów azotanowych III i V w wodach wysiękowych w:

Szymczycha B., Kłostowska Ż., Kuliński K., Winogradow A., Jakacki J., Klusek Z., Grabowski M., Brodecka-Goluch A., Graca B., Stokowski M., Koziorowska K., Rak D., Deep submarine groundwater discharge indicated by pore water chloride anomalies in the Gulf of Gdańsk, southern Baltic Sea, E3S Web Conf., 2018, 54, 00013, DOI: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185400035>.

Prezentacja na konferencji 25th Salt Water Intrusion Meeting, 17-22 Czerwiec 2018, Gdańsk, Poland autorstwa: Szymczycha B., Kłostowska Ż., Kuliński K., Winogradow A., Jakacki J., Klusek Z., Brodecka-Goluch A., Graca B., Stokowski M., Koziorowska K., Rak D., pod tytułem Deep submarine groundwater discharge indicated by pore water chloride anomalies in the Gulf of Gdańsk, southern Baltic Sea

Prezentacja na konferencji 2nd Baltic Earth 2018. Czerwiec 11-15, 2018 Helsingor, Dania autorstwa Szymczycha B., Kłostowska Ż., Kuliński K., Winogradow A., Jakacki J., Klusek Z., Grabowski M., Brodecka-Goluch A., Graca B., Stokowski M., Koziorowska K., Rak D., pod tytułem: Deep submarine groundwater discharge indicated by pore water chloride anomalies in the Gulf of Gdańsk, southern Baltic Sea

Podziękowania:

Opracowana metoda to efekt realizacji projektu WaterPUCK o numerze BIOSTRATEG3/343927/3/NCBR/2017 finansowanego w przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR) w ramach programu BIOSTRATEG III